

**HÄMAGGLUTINATIONSANTIKÖRPER UND
LIPOID A ANTIKÖRPER BEI KINDERN
MIT HARNWEGSINFEKTIONEN UND
SIGNIFIKANTER ESCHERICHIA COLI
BAKTERIURIE**

ELKE KIRCHINGER

~~1987~~

Disbui. München
1988

Aus der v. Haunerschen Kinderklinik der
Ludwig-Maximilians Universität München
Vorstand: Prof. Dr. H.-B. Hadorn

Hämagglutinationsantikörper und Lipoid A Antikörper bei Kindern
mit Harnwegsinfektionen und signifikanter Escherichia Coli
Bakteriurie

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Elke Kirching

aus
München

1987

Mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter : Prof. Dr. W. Marget

Mitberichterstatter : Prof. Dr. H.B. Hadorn

Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter :

Dekan : Prof. Dr. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung : 23.06.1988

Meiner Tochter Nina

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung

II. Material und Methodik

1. Escherichia Coli
2. Die bakterielle Zellwand
3. Lipoid A
4. Endotoxin
5. Methodik des ELISA
6. Methodik der indirekten Hämagglutination
7. Krankengut

III. Ergebnisse

1. Vergleich der Antikörper-Titer bei verschiedenen Coli-Mischantigenen
2. Vergleich der Antigen-Titer bei Gesunden und Kranken
 - 2.1 Mischantigen Coli 1
 - 2.2 Mischantigen Coli 2
 - 2.3 Mischantigen Coli 3
 - 2.4 Mischantigen Coli Gesamt
3. Elisa und Hämagglutination
 - 3.1 Titervergleich bei Gesunden
 - 3.2 Titervergleich bei Kranken
 - 3.3 Titervergleich Gesamt

IV. Diskussion

V. Zusammenfassung

VI. Anhang

VII. Literaturverzeichnis

Einleitung

Harnwegsinfekte sind eine häufige Erkrankung des Kindesalters. Insbesondere rekurrierende HWI's bieten bezüglich Ätiologie und Therapie Unklarheiten, wie sie bei kaum einer anderen bakteriellen Infektion zu finden sind.

Während eine akute HWI meist unproblematisch chemotherapeutisch anzugehen ist, bestehen bei chronischen Verlaufsformen Probleme, die Ursachen der Erkrankung zu erfassen, Rezidive bzw. Neuinfektionen mit einem eventuell vorhandenen Erregerwechsel zu erkennen, zu therapieren und nicht zuletzt durch die immer wieder aufflackernde Infektion entstandene Schäden rechtzeitig zu erkennen bzw. wenn möglich zu verhindern.

Ätiologisch muß man die betreffenden Kinder in zwei Gruppen unterteilen:

Bei einem großen Teil der Patienten finden sich Mißbildungen im Urogenitalbereich wie z.B. Nieren- und Harnleiteranomalien, Nephropathien, Harnsteine, Zysto-urethraler-Reflux oder Innervationsstörungen wie die dystope Blase bei Meningomyelozele, nach Poliomyelitis oder nach Enzephalitis (35) (siehe Tab. 1).

Die zweite Gruppe betrifft Kinder, bei denen röntgenologisch und sonographisch keine morphologischen Veränderungen gefunden werden können.

Die Inzidenz der rekurrierenden Erkrankungsform wird mit 0,5 - 5% angegeben (18) . Im Säuglingsalter erkranken weit mehr Knaben, wobei häufig Mißbildungen vorliegen, während mit zunehmendem Alter deutlich das weibliche Geschlecht überwiegt.

Angeborene Fehlbildungen der Nieren und Harnwege, die zu Harnwegsinfektionen und Pyelonephritis führen können:

Tab.: 1

<u>Anomalie:</u>	<u>Befund:</u>
Nierenhypoplasie	Vermin- derung der Zahl der Nierenläppchen und -kelche
Doppelnieren	Verdoppelung der Niere und/oder des Ureters
Zystennieren	Ein- und doppel- seitig vorkommende Auftrei- bungen (praktisch kein erhöhtes Infektionsrisiko)
Nierendystopie	Verlagerung der Niere, häufig mit Ureterab- knickung und Hydronephrose
Hydronephrose	Nierenbeckenerweiterung bei Harnabflußstö- rung

Hufeisenniere	Teilweise Verschmelzung der Nieren, oft am unteren Pol (praktisch kein erhöhtes Infektionsrisiko)
Ureterabgangs- anomalien	Aberrierendes Gefäß, Stenosen, Briden etc.
Ureteranomalien	Ektope Uretermündung, Uretermündungsstenose Megaureter, Doppelbildungen, Atresien, Ureterocele
Anomalien von Urethra und Blase	Blasenhalsstenose, Urethralklappe bzw. Stenose, Intravesikale Zyste, Megazystis
Blasenektrophie	Nach Außen durch eine Bauchwandlücke verlagerte Blase
Epi- Hypospadie	Nicht regelrecht mündende Urethra

Die Therapie der rekurrierenden HWI bereitet häufig große Schwierigkeiten, da einerseits die Unterdrückung der Infektion im Vordergrund steht, andererseits die Erhaltung der Nierenfunktion gewährleistet sein muß und die chemotherapeutischen Nebenwirkungen kontrolliert werden müssen. Weitere Probleme entstehen durch den oben erwähnten Erregerwechsel und Resistenzbildungen. Oftmals wird versucht diese Tatsache durch wechselnden Infektionsweg zu erklären. So wird beim Säugling ein deszendierender oder hämato-



lymphogener Infektionsweg diskutiert, da gleichzeitig auch der Mai-Gipfel der Pyelonephritis, der mit dem Gipfel der Infektion der oberen Luftwege korreliert damit einhergeht (7).

Prognostisch von großer Bedeutung ist, daß einerseits durch gelungene operative Interventionen die Erkrankung oftmals zum Stillstand kommt. Bei Refluxkorrektur ist die Erfolgsrate bei ca. 50%, bei Ureterabgangsstenosen nur ca. 20 - 30%. Andererseits können durch sorgfältige Betreuung der Patienten schwere Spätschäden meist vermieden werden, da in der Regel die Häufigkeit und Schwere der Schübe mit zunehmendem Alter abnimmt (18).

Auslösend für den akuten Schub einer chronischen HWI können Unterkühlungen oder generell Virusinfekte sein.

Insbesondere das begleitende Auftreten von HWI bei fieberhaften Virusinfekten zeigt die Notwendigkeit häufiger Urinkontrollen bei betroffenen Kindern, da sonst Rezidive leicht übersehen werden.

Die für HWI häufigen Erreger entstammen meist dem gramnegativen Bereich. Neben Proteus, Enterokokken, Klebsiellen und Pseudomonas spielen Escherichia coli besonders bei nicht-obstruktiven Erkrankungen die wichtigste Rolle (18). Interessant ist die Parallelität der für HWI verantwortlichen Colitypen mit aus dem Intestinaltrakt isolierbaren Keimen (18).

Escherichia coli

Als Colibakterien werden eine große Gruppe von Enterobakterien zusammengefaßt, die als gemeinsames Kennzeichen mikroskopisch als gramnegative sporenlose Stäbchenbakterien zu erkennen sind und Laktose und Glukose unter Gasbildung vergären.

E. coli sind obligate Bewohner des menschlichen Darmes, können jedoch unter gewissen Umständen als Erreger entzündlicher und septischer Prozesse wie zum Beispiel bei der gefürchteten Colienteritis des Säuglings auftreten.

Der Antigenaufbau der Colibakterien ähnelt dem Aufbau anderer Enterobacteriaceae. Man unterscheidet Körperantigene und Geißelantigene. Bei den Körperantigenen, die auch somatische Antigene genannt werden, finden sich neben den thermostabilen O-Antigenen, die ihnen aufgelagerten K-Antigene, die nach dem Grad ihrer Hitzestabilität als L-, A- oder B-Antigene bezeichnet werden (1). Die Anwesenheit von K-Antigenen bewirkt keine oder niedrige Agglutinationstiter, wenn man sie mit homologen O-Seren zusammenbringt. Erst nach Zerstörung der K-Antigene durch Erhitzen stellt sich die Agglutination ein. Die Bedeutung dieses Phänomens liegt in der daraus resultierenden Möglichkeit der serologischen Typenbestimmung. Ebenfalls antigen wirksam sind die Geißeln (H-Antigen), die den E. coli Bakterien ihre Beweglichkeit verleihen. Zusätzlich finden sich bei zahlreichen Stämmen elektronenmikroskopisch feine Fortsätze, die als Fimbrien bezeichnet werden. Sie beeinflussen zwar nicht die Beweglichkeit

der Bakterien, bewirken aber die Fähigkeit Erythrozyten verschiedener Spezies zu agglutinieren. Erwähnenswert sind hier auch die sog. pathogenen P-Pili verschiedener Coli-Typen, die durch vermehrte Haftung am Epithel des Urogenitaltraktes Infektionen begünstigen. Die Antigenanalyse beginnt mit der Bestimmung der O-Antigene, wodurch die Coli-Bakterien in verschiedene Untergruppen unterteilt werden. Danach erfolgt die Bestimmung der K-Antigene und schließlich die der H-Antigene. Aus der Kombination dieser drei Antigene ergibt sich schließlich der serologische Typ. Bis heute sind 147 O-Gruppen, 90 K-Antigene und 49 H-Antigene bekannt (4). Im Gegensatz zu Infektionen mit Salmonellen oder Shigellen, bei denen die serologische Typeneinteilung in der Praxis für die Diagnosestellung wichtig ist, erweist sich die serologische Typisierung der Colibakterien eher wissenschaftlich bedeutsam und aus klinischer Sicht mit Ausnahme der Säuglingsenteritis weniger relevant.

Tab.: 2 (1)

Gruppe	Antigene		
	O	K	H
1	1	1L	(7)
	1	51L	(7)
2	2	1L	4
	2	1L	5
	2	1L	6

Gruppe

Antigene

	2	1L	(7)
	2	2a 2b L	1
	2	5L	(4)
	2+	5L	4
	2	7L	7
	2	51L	(7)
3	3	2a 2b L	2
4	4	3L	(5)
	4	6L	5
	4	12L	(5)
	4	52L	(4)
5	5	4L	4
6	6	2a 2c L	1
	6	13L	(1)
	6	15L	16
	6+/-	.	10
	6	53L	.
	6	54L	10
7	7	1L	.
	7	7L	4
8	8	8L	4
	8	8L	20
	8	25B	9

Gruppe

Antigene

8	25B	19
8	27A	(10)
8	28A	19
8	40A	(9)
8	41A	11
8	42A	(4)
8	43A	11
8	44A	.
8	45A	9
8	46A	4
8	47A	2
8	48A	9
8	48A	19
8	49A	11
8	49A	21
8	50A	(9)

Auszug aus der Antigentabelle der Colibakterien

(Nach Kaufmann-Knipschild-Vahlne)

Endotoxin

Infektionen mit gramnegativen Bakterien sind durch eine Vielzahl von Symptomen charakterisiert, die auf das Vorhandensein von Endotoxin, einer an der Oberfläche von gramnegativen Bakterien sich befindlichen makromolekularen Substanz, dem Lipopolisaccharid LPS, zurückzuführen sind.

Fieber, Schmerz, Leukozytose und nicht zuletzt der mit einer Letalität von 60 - 80% behaftete Endotoxinschock, bei E.coli Sepsis sind Reaktionen des Organismus auf die Anwesenheit von Endotoxin.

Tab.: 3 (34)

Die wichtigsten toxischen Wirkungen von Endotoxinen bzw.
von Lipoid A:

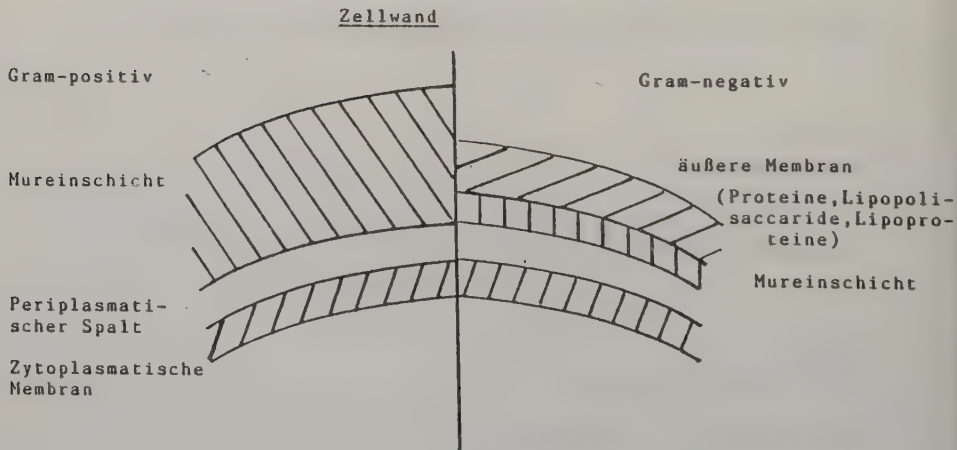
- Granulozytose
- Fieber
- Stimulation von B-Lymphozyten
- Anstieg von Plasmacortisol
- Vermehrte Histamin-Freisetzung
- Abfall von Serumeisen
- Aktivierung von Plasminogen
- Aktivierung des Hageman-Faktors
- Hepatozytotoxizität
- Anstieg von STH
- Shwartzmán-Phänomen

Die bakterielle Zellwand

Die Zellumhüllung der Bakterien setzt sich zusammen aus zytoplasmatischer Membran, Zellwand, und dem dazwischenliegenden periplasmatischen Spalt, der ausgeschiedene Proteine enthält.

Der Aufbau der Zellwand ist bei grampositiven (bei der Gramfärbung blauschwarz gefärbte Zellen) und den gramnegativen (rotgefärbten) Zellen unterschiedlich, das Gerüst jedoch im Prinzip ähnlich.

Abb.: 1 (4)



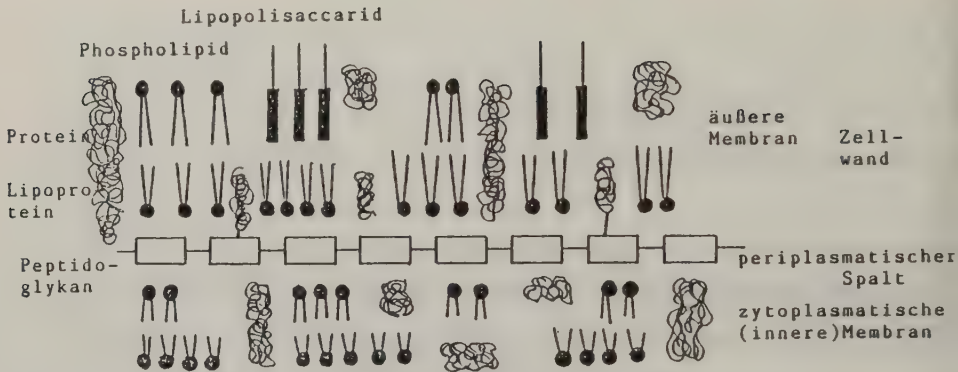
Schematische stark vereinfachte Darstellung der Zellumhüllung grampositiver und gramnegativer Bakterien.

Die mehrschichtige Zellwand der gramnegativen Bakterien ist dünner (15-20 nm) als die der grampositiven Bakterien, und besteht aus einer Mureinschicht und einer äußeren Membran.

Die äußere Membran stellt die Barriere zwischen Umgebung und Bakterienzelle dar. Sie ist der Sitz von Antigenen und Rezeptoren für Bakteriophagen und Bakteriocine, sowie durch porenbildende Proteine für den Stofftransport verantwortlich (siehe Abb.: 2)

Die Lipopolysaccharide (LPS) der äußeren Membran, die fest in die Zellwand verankert sind, und somit erst bei Zellauflösung freigesetzt werden, besitzen toxische Eigenschaften. Diese LPS, die beispielsweise durch Phenol-Wasser Extraktion gewonnen werden können, werden als Endotoxine bezeichnet (4).

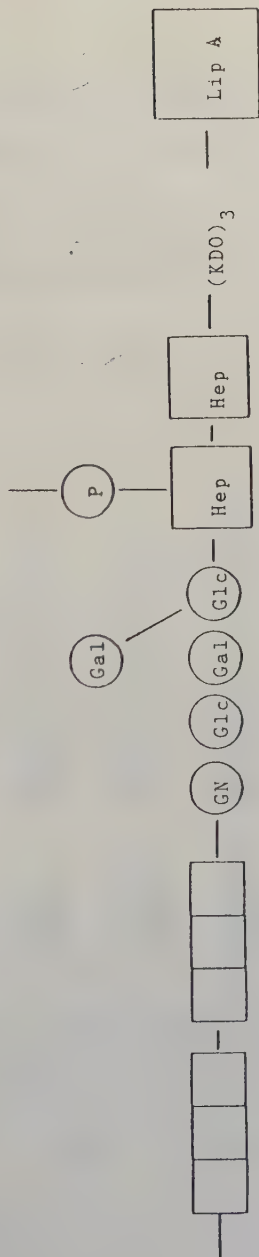
Abb.: 2 (4)



Schematische Darstellung der Zellumhüllung gramnegativer Bakterien.

Die toxischen Eigenschaften der LPS liegen im Lipoid A-Anteil, einem Phospholipid, das bei allen gramnegativen Bakterien ähnlich aufgebaut ist.

Die äußere Region (Region I) besteht aus sich wiederholenden Oligosaccharideinheiten (O-spezifische Seitenketten), die auch als Körper -oder O-Antigene bezeichnet werden. Diese Antigene bewirken im Makroorganismus die Bildung O-spezifischer



Schematische Darstellung des Aufbaus von Lipopolysacchariden von Salmonellen

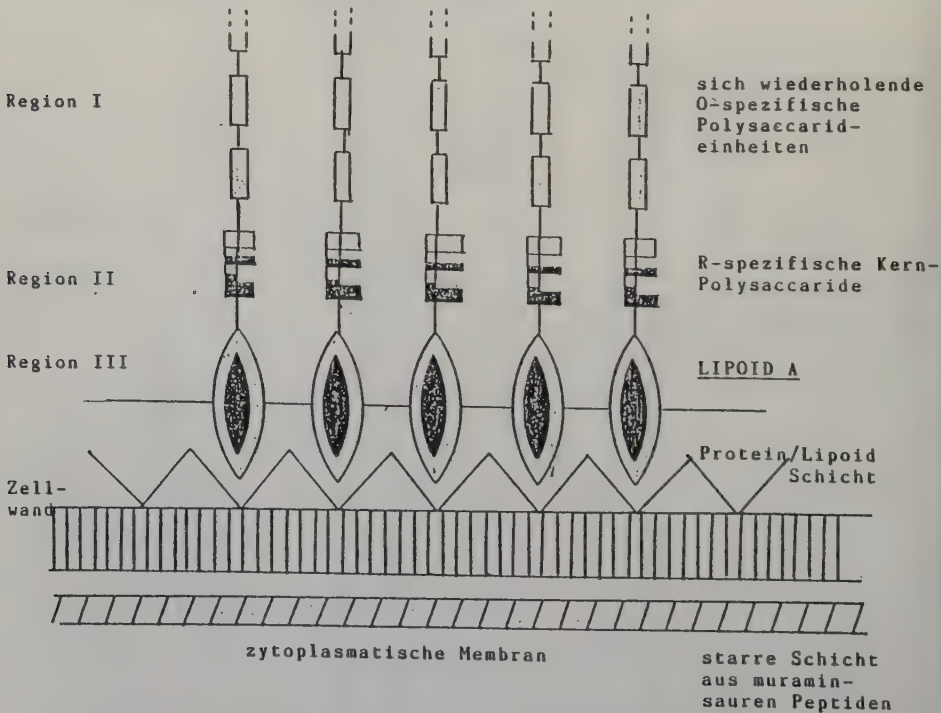
- KDO = Ketodesoxyoctonsäure
- Hep = L-Glycero-D-mannoheptose
- Glc = D-Glucose
- Gal = D-Galaktose
- GN = D-Glukosamin
- P = Phosphorsäureester

Antikörper. Die O-spezifischen Seitenketten zeigen große Variationen in ihrem Aufbau, wodurch die große Zahl unterschiedlicher O-Antigene mit verschiedener serologischer Spezifität entsteht.

Region II, bestehend aus dem Kernpolysaccharid ist bei allen Salmonellen gleich, bei anderen gramnegativen Bakterien jedoch verschieden.

An das Kernpolysaccharid schließt sich Region III, das Lipoid A an (4).

Abb.: 4 (34)



Modellvorstellung eines bakteriellen Endotoxinkomplexes

Lipoid A

Lipoid A schließt an die Bakterienzellwand an. Dieses Lipid verursacht die bekannten toxischen Wirkungen (Westphal 1975).

Außerdem besitzt Lipoid A die Merkmale eines Vollantigens (Westphal 1975), d.h. hohe Titer von spezifischen Antikörpern gegen Lipoid A können durch Immunisierung hervorgerufen werden, wobei diese bei allen Enterobacteriaceae praktisch identisch sind.

Lipoid A zeigt eine hohe Affinität zu Zellmembranen; es kann an den renalen Zellen persistieren und als Initiator des pathogenetischen Mechanismus bei rekurrierenden HWIs funktionieren.

Es war bis heute schwer präzise Antikörper gegen Lipoid A in menschlichem Serum nachzuweisen, da es ein schwaches Antigen ist. Vorausgegangene Studien haben nicht gezeigt, ob die Antikörper zu Lipoid A der Gruppe IgG, IgA oder IgE angehören.

Methodik des ELISA

Die Lipoid A-Antikörper der zu untersuchenden Serumproben wurden mit einem sandwich antibody type ELISA bestimmt (ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay). Für den Test verwendeten wir einen Mikro-ELISA-Analysator PR-50 der Firma Gilford.

Der Bestandteil des verwendeten Enzymkonjugats war eine an anti-human IgG bzw. IgM adsorbierte alkalische Phosphatase.

P-Nitrophenylphosphat war das Substrat der Enzymreaktion, das zu p-Nitrophenolat (gelbe Farbe) und Phosphat gespalten wurde.

Zuerst werden die Küvetten mit Lipoid A - Antigenlösung beschichtet (Konzentration 5mg/l, Verdünnung in PBS, pH 7,3).

Die Küvetten werden sodann 5 Stunden inkubiert (35°C) und bei 4°C gelagert. Zur Benetzung eventuell noch freier Stellen an den Küvetten und zur Verhinderung unspezifischer Antikörperbildung, wird "nachgecoatet" (0,5%ge Rinderalbuminlösung, Inkubationszeit 45min. bei 37°C).

Die Rinderalbuminlösung wird mit PBS-Tween ausgewaschen und die Serumproben in vier Verdünnungen zugesetzt ($1:10^1$, $1:10^2$, $1:10^3$, $1:10^4$). Es werden jeweils drei Parallelansätze jeder Verdünnung angefertigt.

Die Küvetten mit PBS-Tween verdünntem Serum werden fünf Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Nach dem Auswaschen wird die IgG- bzw. IgM - Enzymkonjugatlösung zugesetzt (1:1000 mit PBS-Tween verdünnt).

Erneutes Auswaschen nach 16 Stunden Inkubation bei

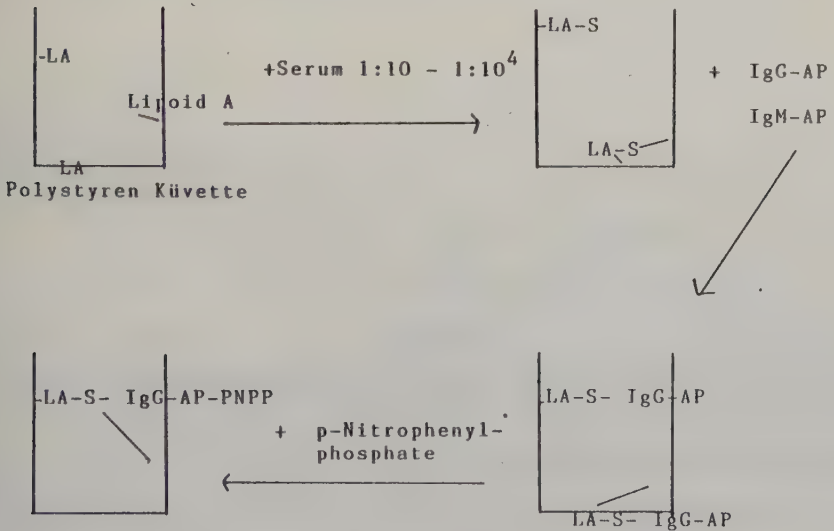
Zimmertemperatur.

Zugabe von NPP (1mg/ml in Diethanolaminpuffer, pH 9,8) startet die Substratreaktion.

3 N Natronlauge stoppt die Reaktion für den Nachweis von IgG-Antikörpern nach 60 min bei 37°C, sowie für IgM-Antikörper nach 30 min. Sodann wird die Extinction des gelben Reaktionsproduktes im Photometer bei 405 nm gemessen.

Der Farbreaktionsübergang von Farblos zu Gelb ist dem Gehalt an Antikörpern proportional.

Abb.: 5



Methodik der indirekten Hämagglutination

Zur Bestimmung der O - Antikörper wurde die als Mikromethode modifizierte indirekte Hämagglutination nach Neter (28) verwendet. Als Träger der O - Antigene dienten menschliche Erythrocyten der Blutgruppe O Rh +.

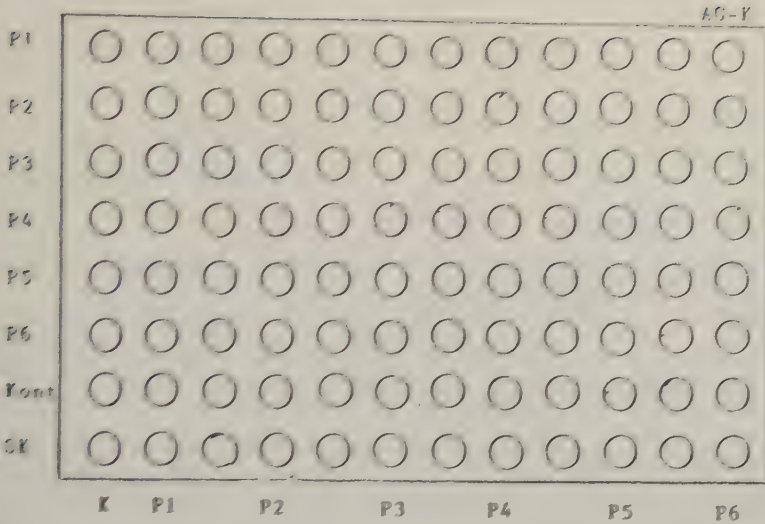
Folgende Mischantigene wurden verwendet:

1. Coli I: 021, 022, 025, 057
2. Coli II: 09, 012, 013, 017, 023, 027, 033
3. Coli III: 01, 02, 04, 06, 07, 08, 018, 075

Das jeweilige E. coli Mischantigen wird 30 Minuten mit den gereinigten Erythrocyten inkubiert.

Auf einer Mikrotiterplatte wird aus dem bei 56°C denaturierten Patientenserum eine Verdünnungsreihe von 1:1 bis 1:128 hergestellt. Danach werden die mit dem Mischantigen inkubierten Erythrocyten dazugegeben, erneut bei 37°C inkubiert und anschließend das Ergebnis abgelesen.

Abb. 2 6



Mikrotiterplatte

Krankengut

Zur Patientengruppe gehören 12 Mädchen aus der HWI-Sprechstunde der von Haunerschen Kinderklinik, die zum Zeitpunkt der Blutentnahme eine E.coli Bakteriurie von $> 10^6$ hatten. Das durchschnittliche Alter betrug 10,7 Jahre bei einer Streuung von 3,7. Das jüngste Kind war 4 Jahre, das Älteste 7 Jahre alt. Diese Gruppe wurde verglichen mit einem Kollektiv gesunder Kinder ähnlicher Altersstruktur, wobei das jüngste Kind 3 Jahre, das Älteste 18 Jahre alt war.

Alle Seren wurden zweifach mit den drei E. coli Mischantigenen, sowie dreifach auf ELISA IgG und IgM Titer, getestet.

Ergebnisse

1. Vergleich der verschiedenen Coli-Mischantigene:

Alle Patienten wurden mit drei verschiedenen Coli-Mischantigenen getestet:

Coli I: 021, 022, 025, 057

Coli II: 09, 012, 013, 017, 023, 027, 033

Coli III: 01, 02, 04, 06, 07, 08, 018, 075

Die Ergebnisse werden in den nächsten beiden Tabellen wiedergegeben:

	<u>Coli I</u>	<u>Coli II</u>	<u>Coli III</u>
Patient:	1	640	1280
	2	160	320
	3	80	320
	4	320	640
	5	160	640
	6	320	640
	7	160	640
	8	40	320
	9	160	640

		Coli I	Coli II	Coli III
Patient:	10	320	160	640
	11	40	160	640
	12	40	320	640
Kontrollen:	1	160	80	320
	2	320	160	320
	3	320	160	160
	4	80	320	160
	5	160	40	640
	6	20	20	320
	7	160	20	160
	8	80	40	160
	9	80	40	80
	10	40	80	160
	11	40	40	160
	12	80	80	160
	13	80	80	80
	14	80	80	320
	15	80	160	160
	16	160	160	160
	17	80	160	160

Aus der ersten Tabelle geht deutlich hervor, daß für Mischantigen-Coli III, sowohl für Kranke, als auch für Gesunde, die höchsten Titer vorliegen.

2. Vergleich der Antigen-Titer bei Gesunden und Kranken:

2.1. Mischantigen Coli I:

Die Seren von 12 Patienten im akuten Schub und 17 gesunden Kindern wurden auf ihre Titer bezüglich der Coli Stämme 021, 022, 025 und 075 untersucht. Die folgende Tabelle gibt die verschiedenen Titer wieder:

Titer			Titer		
Patient:	1	640	Gesund:	1	160
	2	160		2	320
	3	80		3	320
	4	320		4	80
	5	160		5	160
	6	320		6	20
	7	160		7	160
	8	40		8	80
	9	160		9	80
	10	320		10	40
	11	40		11	40
	12	40		12	80
				13	80
				14	80
				15	80
				16	160
				17	80

Nach dem zweiseitigen Mantel-Haenszel Test wurde die Korrelation der Titer der Patientenseren mit den Vergleichsseren untersucht. Die Titerstufen von 0 bis 1280 wurden mit den Zahlen 0 bis 8 durchnummeriert.

Mantel-Haenszel Test

Coli I

Übersicht:

											<u>Mittel</u>	

Ergebnis:

Die Korrelation erwies sich als fraglich signifikant.

2.2 Mischantigen Coli II:

Sämtliche Seren wurden nun auf ihre Titer bezüglich der Coli-Stämme: 09, 012, 013, 017, 023, 027, 033 untersucht:

		Titer			Titer
Patient:	1	640	Gesund:	1	80
	2	80		2	160
	3	160		3	160
	4	160		4	320
	5	320		5	40
	6	160		6	20
	7	80		7	20
	8	160		8	40
	9	160		9	40
	10	160		10	80
	11	160		11	40
	12	320		12	80
				13	80
				14	80
				15	160
				16	160
				17	160

Mantel-Haenszel Test

Coli 11

Übersicht:

											<u>Mittel</u>	
											<u>Anzahl</u>	<u>Wert</u>

Ergebnis:

Im Zweiseitigen Mantel-Haenszel Test ergibt sich ein
signifikanter Unterschied bezüglich der Titerstufen für Kranke
und Gesunde.

2.3. Mischantigen Coli III

Alle Seren wurden auf ihre Antigentiter bezüglich der Coli Typen: 01, 02, 04, 06, 08, 018, 075 untersucht.

		Titer		Titer	
Patient:	1	1280	Gesund:	1	320
	2	320		2	320
	3	320		3	160
	4	640		4	160
	5	640		5	640
	6	640		6	320
	7	640		7	160
	8	320		8	160
	9	640		9	80
	10	640		10	160
	11	640		11	160
	12	640		12	160
				13	80
				14	320
				15	160
				16	160
				17	160

Ergebnis:

Der Mantel-Haenszel Test ergibt eine statistisch hochsignifikante Korrelation der Titerstufen für Gesunde und Kranke, d.h. erkrankte Kinder haben eindeutig höhere Titer bzgl. Coli-Mischantigen III, bzw. mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % kann aufgrund der Höhe des Titers auf Krankheit oder Fehlen einer frischen Infektion rückgeschlossen werden.

2.4. Mischantigen Coli I - III gesamt:

Faßt man die Ergebnisse zusammen, so ergibt sich wiederum ein hochsignifikanter Unterschied zwischen Gesunden und Kranken mit $P < 0,0001$, das heißt mit 95%ger Sicherheit. Es kann aufgrund der Höhe des Colititers auf eine bestehende Coliinfektion rückgeschlossen werden.

Mantel-Haenszel Test

Coli I - III gesamt

Übersicht:

	<u>Einteilung</u>										<u>Mittel</u>	
											<u>Anzahl</u>	<u>Wert</u>
Gruppe:N	0	1	2	3	4	5	6	7	8	No		
Pat.: 36	0	0	0	3	3	11	8	10	1	36		5,6
%:	0	0	0	8,3	8,3	30,6	22,2	27,8	2,8			
Ges.: 51	0	0	3	6	15	19	7	1	0	51		4,5
%:	0	0	5,9	11,8	29,4	37,3	13,7	2,0	0			

Pat.: = Patienten

Ges.: = Gesunde

% : = Prozent

Ergebnis (zweiseitig)

Asymptotic $P < 0.0001$ (Chisqu. = 15.8749, DF = 1)

ELISA und Hämagglutination

Untersucht man ELISA-Ergebnisse und Hämagglutinations-Ergebnisse auf einen Zusammenhang, so läßt sich auch hier eine Korrelation statistisch nachweisen.

Berücksichtigt werden muß jedoch, daß Hämagglutinationsantikörper und ELISA-Ergebnisse nicht direkt miteinander verglichen werden können, der Zusammenhang jedoch wissenschaftlich äußerst interessant ist. Im ELISA-Test werden Antikörper gegen Lipoid A erfaßt, die bei allen Enterobacteriaceae praktisch identisch, d.h. nicht E-Coli spezifisch sind und ca. 6 - 8 Wochen nachweisbar bleiben.

Die O Antikörper, die durch Hämagglutination nachgewiesen werden, sind dagegen spezifisch gegen E-Coli gerichtet und nur 10 - 14 Tage nachweisbar.

Um die jeweiligen Ergebnisse dennoch vergleichen zu können, werden die Titer in 2 verschiedene Gruppen unterteilt:

Gruppe I : ELISA 0 - 2

HAA 0 - 160

Gruppe II : ELISA 3 - 4

HAA 320 - 1280

3.1 Vergleich von ELISA und HAA bei Gesunden

Analyse "Gesunde"

Übersicht:

	N	Einteilung		Anzahl
Gruppe:		0	1	
HAA :	16	12	4	16
		75,0%	25,0%	
ELISA:	16	9	7	16
		56,3%	43,8%	

Ergebnis (zweiseitig)

Asymptotic

- Pearson $P = .2642$ (Chisqu. = 1.2468, DF = 1)

- Information $P = .2619$ (Chisqu. = 1.2587)

Exact (Fisher) $P = .4578$ (Local $P = .1614$)

3.2 Vergleich von ELISA und HAA bei Kranken

Analyse "Kranke"

Übersicht:

	N	Einteilung		Anzahl
Gruppe:		0	1	
HAA :	13	3	10	13
		23,1%	76,9%	
ELISA:	13	1	12	13
		7,7%	92,3%	

Ergebnis (zweiseitig)

Asymptotic

- Pearson P = .2770 (Chisqu. = 1.1818, DF = 1)

- Information P = .2677 (Chisqu. = 1.2286)

Exact (Fisher) P = .5930 (Local P = .2487)

3.3 Vergleich von ELISA und HAA insgesamt

Analyse "Gesamt"

Übersicht:

	N	Einteilung		Anzahl
Gruppe:		0	1	
HAA :	29	15	14	29
		51,7%	48,3%	
ELISA:	29	10	19	29
		34,5%	65,5%	

Ergebnis (zweiseitig)

Asymptotic

- Pearson P = .1849 (Chisqu. = 1.7576, DF = 1)

- Information P = .1837 (Chisqu. = 1.7673)

Exact (Fisher) P = .2889 (Local P = .0890)

Diskussion

Aus dem Vergleich von kranken und gesunden Testpersonen geht hervor, daß bei hohen Hämagglutinationstitern auf eine mehr oder weniger frische Infektion mit E.coli Bakterien rückgeschlossen werden kann. Dieser Titeranstieg zeigt die Reaktion des Organismus auf die Infektion. Am deutlichsten zeigt sich dieser Anstieg mit Mischantigen Coli III, sodaß überlegenswert wäre, ob die Testung mit diesem Mischantigen nicht als Routineuntersuchung bei rekurrierenden HWI's eingeführt werden sollte. Ein Titeranstieg dieser Art wurde auch bei frischen Klebsielleninfektionen beobachtet, doch konnten aufgrund der geringen Fallzahl diese Daten nicht statistisch ausgewertet werden.

Als sehr interessant erwies sich auch die Testung eines wenige Monate alten Säuglings, der aufgrund der Altersstruktur der übrigen Kinder ebenfalls nicht statistisch berücksichtigt wurde. Dieser Säugling mit einer Bakteriurie von $> 10^6$ war nicht in der Lage nachweisbare Hämagglutinationstitere zu entwickeln. Auch im ELISA Test zeigt sich nur ein IgM Wert von 1 bzw ein IgG Wert von 0, womit der kleine Patient deutlich unter den Werten der älteren Patienten liegt. Ob diese Unfähigkeit der Antikörperreaktion auf eine Infektion ein beim Säugling reproduzierbares Phänomen ist, wäre ein Ansatzpunkt für neue Forschungsarbeiten.

Sucht man einen Zusammenhang von Gesamt-IgM und IgG Werten mit ELISAtitern, als Nachweis unspezifischer Lipoid A Antikörper und Hämagglutinationsergebnissen zeigt sich, daß pathologisch

erniedrigte IgM-oder IgG Werte nicht unbedingt erniedrigte Elisa-IgM-oder IgG Werte nach sich ziehen. Auch die Hämagglutinationstiter verhalten sich, soweit aus den vorhandenen Daten ersichtlich nicht direkt proportional. Ebenso lassen auch erhöhte Gesamt-IgM und IgG Werte keine weiteren Schlüsse zu. Eine statistische Auswertung war jedoch aufgrund der unvollständigen Daten nicht möglich.

Vergleicht man jedoch Hämagglutinationsergebnisse (O-AK gegen polyvalentes E. coli Mischantigen mit ELISA Ergebnissen (Lipoid A Antikörpern), so läßt sich hier der statistisch signifikante Zusammenhang nachweisen. Wie bereits im Ergebnissteil beschrieben, gehen hohe Hämagglutinationstiter mit hohen ELISAtitern einher, bzw zeigen die gesunden Kontrollpersonen bei beiden Untersuchungen niedrige Ergebnisse. Würde dies durch weitere Untersuchungen bestätigt, so könnte man die indirekte Hämagglutination durch die Methode des ELISATests ersetzen, und in die Reihe der Routinelaboruntersuchungen bei Kindern mit rekurrierenden Harnwegsinfektionen einreihen. Damit hätte man einen Parameter, mit dem nicht nur die Infektion, sondern auch die Reaktion des Organismus auf diese Infektion, nachgewiesen werden kann.

Bei den ELISA Ergebnissen zeigt sich weiter, daß eine Erhöhung des Spiegels an zirkulierendem IgM gegen Lipoid A mit einer Erhöhung des IgG Wertes einhergeht. Dies läßt den Schluß zu, daß eine persistierende Antigenstimulation durch Lipoid A erfolgt, welches an den Schleimhäuten des Urogenitaltraktes haftet.

Vielleicht klärt sich eines Tages die Frage, welche Rolle Lipoid A bei der Erkrankung der rekurrierenden HWI spielt und damit, ob die Hypothese, daß Lipoid A induzierender Faktor der chronischen Pyelonephritis ist (*,42).

Zusammenfassung

Bei 13 Patienten mit Bakteriurie $\geq 10^6$ Keimen und nachgewiesener E.coli Infektion zum Zeitpunkt der Blutabnahme wurden mit drei verschiedenen E.coli Mischantigenen die O-Antikörper, bzw mit dem ELISA-Test die Lipoid A Antikörper bestimmt.

Diese Patientengruppe wird mit 17 gesunden Kindern gleicher Altersstruktur verglichen.

Es ist zu vermuten, daß nach wie vor unter den Colitypen 01,02,04,06,07,08,018 und 075 diejenigen sind ,die die häufigsten Infektionen verursachen.

Ebenso konnte nachgewiesen werden, daß Patienten mit rekurrierenden Harnwegsinfektionen eine statistisch hochsignifikante Erhöhung der O-Antikörper zeigen.

Untersucht man den Zusammenhang zwischen ELISA als Nachweis unspezifischer Lipoid A Antikörper und Hämagglutination (spezifische O-AK gegen polyvalentes E. coli Mischantigen), so läßt sich eine Korrelation auch hier statistisch nachweisen.

Ferner zeigt die Untersuchung von IgM-AK und IgG-AK gegen Lipoid A, daß ein IgM Anstieg in der Regel mit einem Anstieg des IgG einhergeht.

Anhang

Patienten- seren	Coli 1	Coli 2	Coli 3	ELISA IgM	ELISA IgG	Ges. IgM	Ges. IgG	Alter
P 1	640	640	1280	2.5	0.5	175	1880	11
P 2	160	80	320	0	1	67	989	10
P 3	80	160	320	4	0	122	1100	9
P 4	320	160	640	4	2	126	1020	15
P 5	160	320	640	3	0	191	1079	9
P 6	320	160	640	3	3	167	1170	11
P 7	160	80	640	4	1	98	1300	18
P 8	40	160	320	3	3			8

Patienten- seren	Coli 1	Coli 2	Coli 3	ELISA IgM	ELISA IgG	Ges. IgM	Ges. IgG	Alter
P 9	160	160	640	2	0	114	1000	12
P10	320	160	640	3	3	83	1070	4
P11	40	160	640	4	1			8
P12	40	320	640	4	1			14
P13	0	0	0	1	0			0

Kontroll- seren	Coli 1	Coli 2	Coli 3	ELISA IgM	ELISA IgG	Ges. IgM	Ges. IgG	Alter
K 1	160	80	320	2	0	155	1350	18
K 2	320	160	320	2	0	166	1220	12
K 3	320	160	160	3	1	111	1140	12
K 4	80	320	160	3	0	126	1404	15
K 5	160	40	640	2	0	137	1180	15
K 6	20	20	320	1.5	0	56	1070	5
K 7	160	20	160	2	0	100	1066	10
K 8	80	40	160	2	0	114	822	14
K 9	80	40	80					16

Kontroll- seren	Coli 1	Coli 2	Coli 3	Elisa IgM	Elisa IgG	Ges. IgM	Ges. IgG / Alter
K10	40	80	160	1.5	0	90	650 6
K11	40	40	160	2	0	124	814 9
K12	80	80	160	3	0	146	1530 15
K13	80	80	80	1	0	57	665 18
K14	80	80	320	3	0	118	937 12
K15	80	160	160	2	0		12
K16	160	160	160	2	1.5		3
K17	80	160	160	1.5	0.5	150	837 6

HAA bei Klebsiellen-AG:

P 1: 160

K 1: 40

P 2: 640

K 2: 40

K 3: 40

K 4: 40

K 5: 80

K 6: 80

K 7: 80

K 8: 80

K 9: 10

K10: 20

Indirekte Hämagglutination

Material:

- physiolog. NaCl (0,9%) -
- O Rh pos. Blut oder Hammelblut
- Zentrifugenröhrchen
- Mischantigen von verschiedenen Stämmen : Coli,
Klebsiella, Proteus, Pseudomonas Aeruginosa
- Tropfpipetten 50 μ l
- Mikrotiterplatten V-form
- "Diluter", Verdünner 50 μ l
- Patientenseren
- Pipetten 1ml, 5ml, 10ml

Methode der indirekten Hämagglutination nach Nether

1. O-Rhpos Blut 3x waschen, Serum jeweils bei 3200 / min. über 5 min. abzentrifugieren, anschließend Serum absaugen und mit 0,9% NaCl auffüllen.

Vorgang so oft wiederholen, bis der Überstand klar ist.

2. Patientenserum bei 56°C 30 min. denaturieren.

3. Mischantigen verdünnen (1:2 bzw 1:8)

4. Erythrozyten-Verdünnung herstellen.

Verdünnung 1:100

dazu 25 ml NaCl + 0,25 ml Erys vermischen

5. Mischantigen-Erythrozytengemisch 30 min. bei 37°C inkubieren.

6. Platten vorbereiten:

in alle Löcher außer Spalte 1 und der untersten Reihe für die Serumkontrolle 50 μ l Spüllösung (NaCl) füllen.

7. Patientenserum verdünnen:

in alle Löcher der ersten Spalte und in die letzte Reihe für die Serumkontrolle jeweils 100 μ l Serum tropfen.

Mit dem Diluter (gold) Verdünnungsreihe von Loch 1-11 herstellen. Loch 12 = Antigenkontrolle bleibt frei.

8. Die inkubierten Erys 3 x waschen und zentrifugieren, anschließend mit NaCl auf die Ausgangsmenge auffüllen (4ml).

9. Je 1 Tropfen (50 μ l) in alle Löcher außer der Serumkontrolle geben.

10. Mit Pasteur - Pipetten 2 Tropfen verdünnte Erys in die Serumkontrolle geben.

11. Platten genau nach ev. vorhandenen Luftblasen überprüfen, anschließend mit breitem Tesa dicht versiegeln und 30 min. bei 37°C im Wasserbad inkubieren.

12. Platten in den Kühlschrank legen und am nächsten Tag ablesen.

Serumkontrolle: Mischantigen fehlt $\Rightarrow$ keine Hämagglutination
möglich

Antigenkontrolle: Patientenserum fehlt $\Rightarrow$ Hämagglutination
nicht möglich

Durchführung des ELISA am EIA PR-50 Gerätes

A. Coating:

1. Anschalten des EIA PR-50 Gerätes, sowie des Druckers.
2. Mode 5 wählen:

Blank 2

5	00	00	00
Mode	Soac Time	Washes	Cycle Time

3. Reagenz in die Flasche füllen, mischen, und an den Dispenser hängen
4. Ansaugschlauch ins Reagenzglas setzen, drei mal "purgen", sodann Hebel auf "Auto" zurückstellen
5. Volumenstop einsetzen ($250 \mu\text{l} = 25\%$)
6. Schlauchspitze in die Halterung zurückstecken
7. Küvettenpacks am EIA PR-50 Gerät einsetzen
8. Auf Start drücken (Lage des Zentrierstiftes beachten)
9. Nach Beendigung auf "Cancel" drücken
10. Ansaugschlauch am Dispenser drei mal mit 1ml HCL, sodann drei mal mit Aqua. Dest. spülen. Dabei Volumenstop aussetzen und "Purge" drücken.

B.Vorbereitung zum Waschen:

1. Schlauchpumpe im EIA PR-50 einhängen.
2. Mode 0 wählen:

BLANK 2

0

00

0

00

Mode

Soac Time

Washes

Cycle Time

Seconds

Seconds

3. EIA PR-50, Thermal Printer und Pumpe einschalten.
4. Küvettenpack einsetzen
5. Deckel aufhalten, blaue Taste der Schlauchpumpe drücken, bis alle Küvetten gleichmäßig gefüllt sind.
dabei auf ev. vorhandene Blasen im Schlauch achten.
6. Die Waschvorbereitung wird beendet durch drücken der Taste "Cancel".

C. Antigen auswaschen:

1. Mode 1 wählen :

Blank 2 1 / 00 1 00

Mode	Soac Time	Washes	Cycle Time
	Seconds		Seconds

2. Küvettenpack einsetzen, weiter bei A 7 und 8.

Das Gerät braucht ca.3 min um 3 Küvettenpacks hintereinander zu waschen.

3. Die Küvetten beim 3. Waschvorgang ausleeren.

Am Ende des Programms "Cancel" drücken.

4. Mode 2 wählen:

BLANK 2 2 00 1 00

Mode	Soac Time	Washes	Cycle Time
	Seconds		Seconds

D. Seren verdünnen:

Verdünnungsreihe mit der Automatic Pipette / Diluter von Gilford anlegen:

1. Volumenstop aussetzen. Den Ansaugschlauch in die Verdünnungslösung setzen.
2. Auf "Continious" drücken und die Verdünnungslösung 3x im Schlauch durchspühlen lassen.
3. Hebel auf "Auto" setzen.
4. Gewünschten Volumenstop einsetzen.

Linker Volumenstop für Verdünnerlösung, rechter für Seren.

5. Erstes Serum verdünnen:

Die Schlauchspitze der Pistole in das erste zu verdünnende Serum einstecken.

Auf den schwarzen Knopf der Pistole drücken. Das Gerät saugt jetzt Serum und auch die benötigte Menge Verdünnungslösung auf. Pistolenschlauchspitze vom Serumröhrchen ins erste Verdünnungsröhrchen stecken.

Schwarzen Knopf drücken. Nun bewegt sich der rechte Volumenstop und gibt die gewünschte Menge Serum frei. Aus dem linken Volumenstop kommt die benötigte Menge Verdünnungslösung.

Für die nächste Verdünnungsstufe wird dieser Vorgang wiederholt.

6. Am Ende wird der Schlauch mit in Hcl und danach mit Aqua Dest. gut gespühlt.

Volumenstops wieder aussetzen, wieder auf "Continious" drücken.

E. Enzymkonjugat vorlegen:

1. Serumantikörper auswaschen. Waschvorgang siehe Antigenauswaschen B.

Beim 3. Waschvorgang Mode 3 wählen:

BLANK 3 00 1 00

Mode	Soac Time	Washes	Cycle Time
	Seconds		Seconds

2. Enzymkonjugat am Dispenser anschließen (A 3 - 6), dann weiter wie A 7 - 10.

F. Substrat vorlegen:

1. Enzymkonjugat auswaschen. Waschvorgang siehe Antigenauswaschen B.
2. Beim 3. Waschvorgang Mode 3 wählen:

BLANK 2

3

00

1

06

Mode

Soac Time

Washes

Cycle Time

Seconds

Seconds

3. Substratlösung am Dispenser anschließen (A 3 - 6).

Weiter wie A 7 - 10

Wichtig: bei der ersten Substratzugabe Zeit notieren!

G. Reaktion mit NaOH stoppen:

1. Mode 5 wählen:

BLANK 2 5 00 0 00

Mode	Soac Time	Washes	Cycle Time
	Seconds		Seconds

2. NaOH 3n Lösung am Dispenser anschließen (A 3 - 6).

3. Volumenstop austauschen.

4. Weiter wie A 7 - 10.

Wichtig: Bei der ersten NaOH zugabe Zeit genau notieren!

H. Extinktionsmessung mit dem Photometer:

1. Filter mit 405 nm einsetzen.
2. Das Photometer auf einen 0-Wert einstellen:

Mode 0 wählen

BLANK 1	0	00	0	00
---------	---	----	---	----

Mode	Soac Time	Washes	Cycle Time
	Seconds		Seconds

3. Ein Küvettentrack mit dem BLANK einsetzen. (BLANK = Schicht und Substrat) siehe A 7 - 9.
4. Das Photometer mit dem Drehknopf "Zero" auf 0,05 einstellen, - dadurch ergeben sich keine negativen Meßwerte.
Die Reihe Küvetten wird mit der Taste "Start" weitergedrückt, der Printer schreibt dabei die Meßwerte auf.
5. Am Ende die Taste "Cancel" drücken.
6. Die Proben werden mit Mode 8 gemessen:

BLANK 1	8	00	0	00
---------	---	----	---	----

Mode	Soac Time	Washes	Cycle Time
	Seconds		Seconds

7. Kasette einsetzen (A 7 - 10).
8. Die gemessenen Werte werden automatisch vom Drucker ausgedruckt.

Literaturverzeichnis

1. Bader, R.-E.:

Colibakterien als Bestandteil der Darmflora und als Krankheitserreger.

In: Grumbach, Kikuth: Infektionskrankheiten, 2. Aufl.

2. Betke, K., Lampert, F., Riegel, K.:

Elementare Pädiatrie

Thieme Verlag, 2. Aufl., 1978

3. Braley-Mullen, H., Hayes, N., Sanders, M.:

Suppression of IgM Responses to Type III Pneumococcal Polysaccharide by Lipopolysaccharide (LPS).

Cellular Immunology 30, 300-309 (1977)

4. Brandis, H., Otte, H.J.:

Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie.

Gustav Fischer Verlag, 5. Auflage, 1984

5. Czihak, G., Langer, H., Ziegler, H.:

Biologie

Springer Verlag 1976

6. Fast, A., Hanson, L.A., Jodal, U., Peterson, H.,:

Autoantibodies to Tamm-Horsfall protein associated with urinary tract infections in girls.

The Journal of Pediatrics, Vol. 95, No. 1, pp. 54-60, 1979

7. Feer, E.:
Lehrbuch der Kinderheilkunde
Gustav Fischer Verlag, 24. Aufl., 1980
8. Flehmig, I.:
Normale Entwicklung des Säuglings und ihre Abweichungen
Thieme Verlag, 2.Aufl., 1983
9. Gebrauchsanleitung "ELISA am EIA PR-50"
10. Göing, H., Kaiser, P.:
Endotoxine.
Grumbach/Kikuth: Infektionskrankheiten, 2.Aufl., S. 225 ff.
11. Galanos, Ch., Freudenberg, M., Hase, S., Jay, F., Ruschmann, E.:
Biological Activities and Immunological Properties of Lipid A.
Mikrobiology 1977
12. Harnack, G.-A.:
Kinderheilkunde
Springer Verlag, 5. Aufl., 1980
13. Helwig, H.:
Pädiatrische Therapie
Thieme Verlag, 1983

14. Hinterwäller, E.:

Paediatric

Dr. Jungjohann Verlagsgesellschaft, 4. Aufl., 1985

15. Ito, J.I., Wunderlich, A.C., Lyons, J., Davis, C.E., Guiney, D.G., Braude, A.I.:

Role of Magnesium in the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Lipopolysaccharides of Rough Escherichia coli Strain J5 and Neisseria gonorrhoeae.

The Journal Of Infectious Diseases. Vol. 142, No.:4, Okt. 1980

16. Jann, K. (Ed. Schulte Wissermann):

Bacterial Structures Involved in Urinary Tract Infections.

In : Clinical, Bacteriological and Immunological Aspects of Urinary-Tract Infections in Children.

Georg-Thieme Verlag, Stuttgart 1982, S. 73-81.

17. Jungermann, K., Möhler, H.:

Biochemie

Springer Verlag, 1980

18. Keller, W., Wiskott, A.:

Lehrbuch der Kinderheilkunde

Thieme Verlag, 5. Aufl., 1984

19. Klippel, K.F., Knothe, H., Sietzen, W.:

A Dynamic Antigen Model For Experimental Pyelonephritis.

In: Clin., Bact., and Immunol. Aspects of Urinary-Tract Inf.
in Children.

Georg-Thieme Verlag, Stuttgart 1982

20. Kaijser, B., Larsson, P., Mattsby-Baltzer, I., Söderström,
T.:

Immune Response to E. Coli Antigens and Prophylactic
Immunization Against Acute Pyelonephritis.

In: Clin., Bact., and Immunol. Aspects of Urinary-Tract Inf.
in Children.

Georg-Thieme Verlag, Stuttgart 1982

21. Keller

Klinisch, chemische Labordiagnostik.

Thieme Verlag, S. 57-63.

22. Mar, P.J., Marget, W., Belohradsky, B.H., Roos, R.:

Lipid A IgG & IgM Antibodies in UTI, PN & Sepsis

ICAAC 1984

23. Marget, W., Schüßler, P., Kruis, W., et al.:

Is the Pathogenesis of Crohn's Disease Similar to that of
Juvenile Recurrent Pyelonephritis?

Infection Sonderdruck, Vol. 4, 1976

24. Marget, W., Weiß, M., Ruhland, B.:

Lipid A Antibody Determinations using ELISA on Patients at a
Children's Hospital: A Preliminary Report

25. Marget, W., Westenfelder, M., Galanos, C.:

Immunoresponse to Gram-Negative Bacteria in Infants: An
Aspect of Pathogenesis of Urinary Tract Infections.

In: Gramneg. Bact. Inf. and Mode of Endotoxin Actions

Urbaschek B., et al., Springer Verlag 1975

26. Mattsby-Baltzer, I., Claesson, I., Hanson, L.A., Jodal, U.,
Kaijser, B., Lindberg, U., Peterson, H.:

Antibodies to Lipid A During Urinary Tract Infection.

The Jour. of. Infect. Dis. Vol. 144, No.: 4, Oct. 1981

27. Mattsby-Baltzer, I., Fasth, A., Jaup, B., Kaijser, B.,
Nilsson, L.:

Studies of Antibodies to Lipid A and Tamm-Horsfall in
Patients with Inflammatory Bowel Disease.

Scand. Jour. Gastroenterol., 18: 305-311, 1983

28. Neter, E.:

Bacterial Hemagglutination and Hemolysis.

Bacteriolog. Reviews, Vol. 20, Mar. 1956

29. Olling, S., Mattsby-Baltzer, I.:

Histopathol. and Anti-Lipid A Antibodies in Experimental
Pyelonephritis in Rats.

In: Clin., Bact. and Immun. Aspects of Urinary Tract
Infections in Children.

Georg-Thieme Verlag, Stuttgart 1982

30. Palitzsch, D.:

Pädiatrie

Enke Verlag, 1983

31. Reindke, B., Simon, G., Marget, W.:

Relation of Hemagglutinating Antibodies (HAB) to Lipid A
Antibodies (LA-AB) in Children with Urinary Tract Infection
(UTI) and Bacteriuria.

Dept. of Antimicrob. Therapy, Children's Univ. Hospital,
Munich, Germany

32. Rickham, P.P., Soper, R.T., Stauffer, U.G.:

Kinderchirurgie

Thieme Verlag, 1975

33. Schüßler, P., Kruis, W., Marget, W.:

Lipoid-A-Antikörpertiter und O-Antikörpertiter bei
Enterocolitis Crohn, Colitis ulcerosa und akuter Enteritis.

Med. Klin. 71 (1976), 1898-1902 (Nr. 44)

34. Schüßler, P., Eisenburg, J., Kruis, W., Marget, W.:
Neuere Aspekte zur Bedeutung von Endotoxinen bei einigen
gastrointestinalen Erkrankungen.
Fortschritte der Medizin, Nr.41, Nov. 1978, S. 2057-2120
35. Simon, C.:
Klinische Pädiatrie
Ein Lehrbuch der Kinderheilkunde
Schattauer Verlag, 4. Aufl., 1983
36. Simon, G., Reindke, B., Marget, W.:
Lipoid-A-Antikörpertiter bei Pyelonephritis und anderen
Infektionen mit gram-negativen Bakterien.
Infection 2, Nr. 4, 1974
37. Smith, J.W.:
The Immune Response in Urinary Tract Infection.
In: Clinic., Bact. and Immun. Aspects of Urinary Tract Inf.
in Children
Georg-Thieme Verlag, Stuttgart 1982
38. Weiß, M.:
Lipoid A-Antikörperbestimmungen mithilfe eines
Enzymimmunoassays.
Zwischenbericht über eine experimentelle Studie in der Abt.
f. antimikrobielle Therapie d. Kinderklinik d. Univer.
München. März 1982

39. Westphal, O.:

Bacterial Endotoxins

Transact. Colleg. int. Allerg., 10th Symp., Copenhagen 1974

Int. Archs Allergy appl. Immun. 49: 1-43 (1975)

40. Westenfelder, M., Galanos, C., Withöft, A., Lang, G.:

Vorkommen, Bedeutung und klinische Konsequenz der Lipid A-Antikörper-Titer bei Patienten mit Harnwegsinfekt.

Infection 5, Nr. 3, 1977

41. Westenfelder, M., Galanos, C., Marget, W.:

Role of Antibodies to Lipid A in Nephritis Induced by Lipid A: A Possible Mechanism in the Pathogenesis of Chronic Pyelonephritis.

42. Westenfelder, M., Galanos, C., Madsen, P., Marget, W.:

Pathological Activities of Lipid A: Experimental Studies in Relation to Chronic Pyelonephritis.

Microbiology 1977

43. Wille, L., Obladen, M.:

Neugeborenen-Intensivpflege

Springer Verlag, 3. Aufl., 1984

44. Wiesmann, E.:

Medizinische Mikrobiologie

Thieme Verlag, 5. Aufl., 1982

45. Wunderlich, P.:

Kinderärztliche Differentialdiagnostik

Dr. D. Steinkopff Verlag, 1977

46. Ziegler, E., McCutchan, A., Fierer, J., et al:

Treatment of gram-negative bacteremia and shock with human antiserum to a mutant escherichia coli.

Journal of Medicine, Vol.: 307, Nr.: 20, Nov. 1982

47. Zuppinger, K.:

Berner Datenbuch der Pädiatrie

Gustav Fischer Verlag, 1984

*. Marget, W.; Mar, P.J.:

What is the role of lipid A in the development of pyelonephritis. A hypothesis

Scand. J. Urol. Nephrol. 104, 1987

Danksagung

Ganz besonders Danken möchte ich Herrn Prof. Dr. W. Marget für die Überlassung des Themas meiner Arbeit, sowie Herrn Prof. Dr. H.-B. Hadorn für die Bereitstellung der Räumlichkeiten, einschließlich des Labors, sowie die Möglichkeit meine Untersuchungen an seiner Klinik durchführen zu dürfen.

Weiterhin danken möchte ich ganz herzlich Frl. Pearl Mar für die Überlassung der ELISA Ergebnisse sowie für die Einarbeitung in dieses Thema.

Ebenso danke ich meinem Mann für die aufmunternde Unterstützung und die Mithilfe bei der Arbeit am Rechner.

Lebenslauf

Name : Elke Kirchinger, geb.: Schönauer

Geburtsdatum : 29.05.1960

Geburtsort : Gräfelting

Eltern : Vater : Wilhelm Schönauer
Bauführer
Mutter : Irene Schönauer, geb.: Scholz
Hausfrau

Wohnung : Rothenberger Weg 15, 8510 Fürth/Vach

Familienstand : Verheiratet , ein Kind

Schul Ausbildung : 1966 - 1970 Grundschule (München)
1970 - 1979 Gymnasium (München)

Studium : 1979 - 1985 Universität München (LMU)
1985 - 1986 Praktisches Jahr (Augsburg)

Approbation : Erteilt am 09.05.1986

Tätigkeit : 1. Mai bis 31. Oktober 1987 Mitarbeiter in
einer Gemeinschaftspraxis für Allgemeinme-
dizin.
Seit Nov. Hospitation in der Anästhesieab-
teilung der Birkenwaldklinik (Nürnberg).

